BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
2e Série — Tome 40 — N° 5, 1968 (1969), pp. 897-905.

COAGULATION ET FIBRINOLYSE CHEZ CERTAINS REPTILES
(Étude préliminaire)

A. CATTAN, J.-P. GASC, M. SAMAMA, et J. SCHLUMBERGER

Nous avons entrepris ce travail dans le but d'étudier la coagulation et la fibrinolyse chez les Reptiles. Il n'existe pas en effet, à notre connaissance, de travaux systématiques sur ce sujet. Nous avons jugé préférable d'établir d'abord une série d'observations sur un petit nombre d'espèces : deux serpents, la vipère aspic (*Vipera aspis*) et la Couleuvre verte et jaune (*Coluber viridiflavus*), et une Tortue terrestre, la Tortue grecque (*Testudo graeca*). Le sang de 21 animaux a été prélevé au Laboratoire d'Anatomie comparée du Muséum.
Les examens ont été effectués par deux laboratoires spécialisés, dirigés par deux d'entre nous et travaillant indépendamment. Les données ainsi obtenues ont été comparées à celles connues chez l'Homme, ces dernières étant les seules à avoir été étudiées de façon complète.

Méthodes.

La principale cause de nos échecs initiaux étant la coagulation fréquente des échantillons de sang, nous avons finalement adopté la méthode de prélèvement suivante :

— pour les serpents (la Vipère après prélèvement du venin), section du cou à environ un doigt en arrière de l'os carré ;

— pour la Tortue, section de l'artère carotide et de l'artère cervicale dorsale homolatérale en arrière de la corne hyoïdienne ; cette région est largement débarrassée du tégument et le cou maintenu en extension forcée. Cette opération permet éventuellement 15 jours plus tard la saignée par section des artères de l'autre côté.

Il importe de mettre les tubes à prélèvement au contact immédiat de la plaie et de les maintenir dans une boîte isotherme à + 4° jusqu'au moment de l'exament.

Nous avons utilisé comme anti-coagulant le citrate de sodium 0,13 M, à raison d'une partie pour neuf parties de sang. Tous les prélèvements présentant une amorce de coagulation ont été rejetés.

Parmi les tests employés (Tableau 2) certains n'utilisent aucun réactif étranger en dehors du calcium, suprimant ainsi divers artefacts. Ce sont les temps de coagulation de Lee-White, temps de Howell, fibrinogène par thermo-coagulation, thrombo-élastogramme.

D'autres tests tutilisent des réactifs hétéro-spécifiques : temps de génération de la thrombine, temps de thrombine, temps de reptilase, temps de Quick, étude de l'activité fibrinolytique après action de la streptokinase ou urokinase, temps de céphaline, temps de génération à la thromboplastine simplifiée de Hicks et Pitney, dosage du facteur X selon Denson, dosage des facteurs anti-hémophiliques suivant la technique en un temps de Soulier et Larrieu, dosage des facteurs du complexe thrombinique selon Owren et Koller. Les résultats de tous ces tests expriment des activités enzymatiques et doivent être interprétés avec prudence car ils sont probablement soumis aux effets de la spécificité, à des incompatibilités, etc...

Résultats.

A. Coagulation chez la Tortue.

1. *Coagulation globale* : le temps de coagulation en tubes de verre a été de l'ordre de 10 minutes. La formation du caillot et sa rétraction sont analogues à celles de l'Homme.

Le Temps Howell est de 3 minutes 15 environ.

Le thrombo-élastogramme enregistré sur plasma de sédimentation spontanée montre une amplitude maxima réduite par rapport à celle de l'Homme. Elle est de 15, 35 et 40 mn sur différents animaux.

Sur sang total citraté, recalcifié, le tracé révèle, par contre, une coagulation plus rapide et une amplitude maxima plus élevée que chez l'Homme (fig. 1).

La génération de la thrombine est très longue et extrêmement réduite.

2. Le temps de Quick : mesuré avec une thromboplastine humaine est supérieur à 2 minutes, alors que le plasma humain coagule en 12 secondes. Avec la thromboplastine de cerveaux de Tortue, le temps de Quicfl est nettement plus court (30 à 60 secondes), tandis que les temps obtenus avec le plasma humain s'allongent nettement.

Thrombo plastine	Extrait acétoné de cerveau de tortue	Extrait acétoné de cerveau humain
Plasma de tortue.................	29 à 37	140 à 400
Avec plasma humain..............	66 à 116	13

La nature de la Thromboplastine utilisée joue donc un rôle fondamental. Ce même phénomène a déjà été signalé chez des Mammifères d'espèce différente (Cheval, Bœuf : Albriton, 1955).

Les facteurs du complexe prothrombinique : avec une thromboplastine d'origine humaine, le dosage des facteurs du complexe prothrombinique ne permet de retrouver dans le plasma de Tortue que des traces de proconvertine, de facteur Stuart, de prothrombine vraie. Le taux de proaccélérine est de l'ordre de

50 % des chiffres usuels, quel que soit le substrat utilisé (plasma humain ou plasma de Singe débarrassés artificiellement de leur proaccélérine).

Avec l'extrait tissulaire de la Tortue, les résultats sont difficiles à interpréter, les temps sont très longs pour le plasma humain et pour le plasma de Tortue.

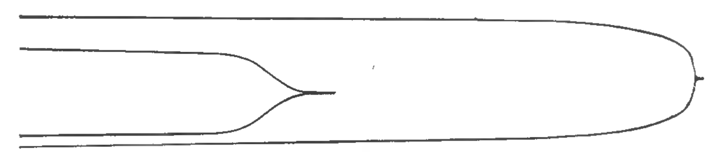


Fig. 1. — Calque de Thromboélastogramme chez *Testudo graeca.* Enregistrement avec le sang total citraté (0,3) et recalcifié (0,3 $CaCl^2$ à 0,40 M) à droite ; avec le plasma de sédimentation spontanée à gauche.

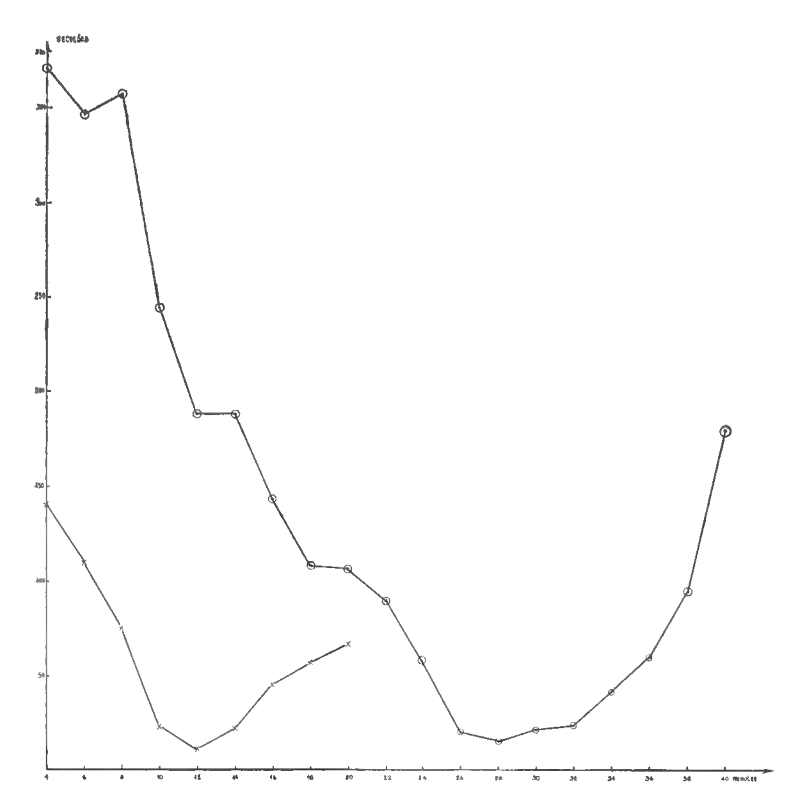


Fig. 2. — Génération de la thrombine. Comparaison entre le sang de tortue et le sang humain (sang citraté recalcifié à raison de 0,1 ml de $CaCl^2$ à 0,5 M pour 1 ml de sang). En abscisse, le temps d'incubation (l'unité est la minute), en ordonnée, le temps de coagulation (l'unité est la seconde). La courbe supérieure correspond au sang de *Testudo graeca*, la courbe inférieure au sang humain.

3. *Thromboplastinoformation :* on apprécie la quantité de thromboplastine intrinsèque formée (fig. 2) et la vitesse de cette formation en mesurant à intervalles réguliers le taux de coagulation d'un plasma substrat auquel on ajoute le plasma étudié. La thromboplastinoformation est rapide et intense lorsque

le substrat est du plasma humain, beaucoup plus lente si le substrat est du plasma de Tortue. L'étude plus approfondie montre que le déficit porte vraisemblablement sur l'activation du facteur Stuart (facteur X).

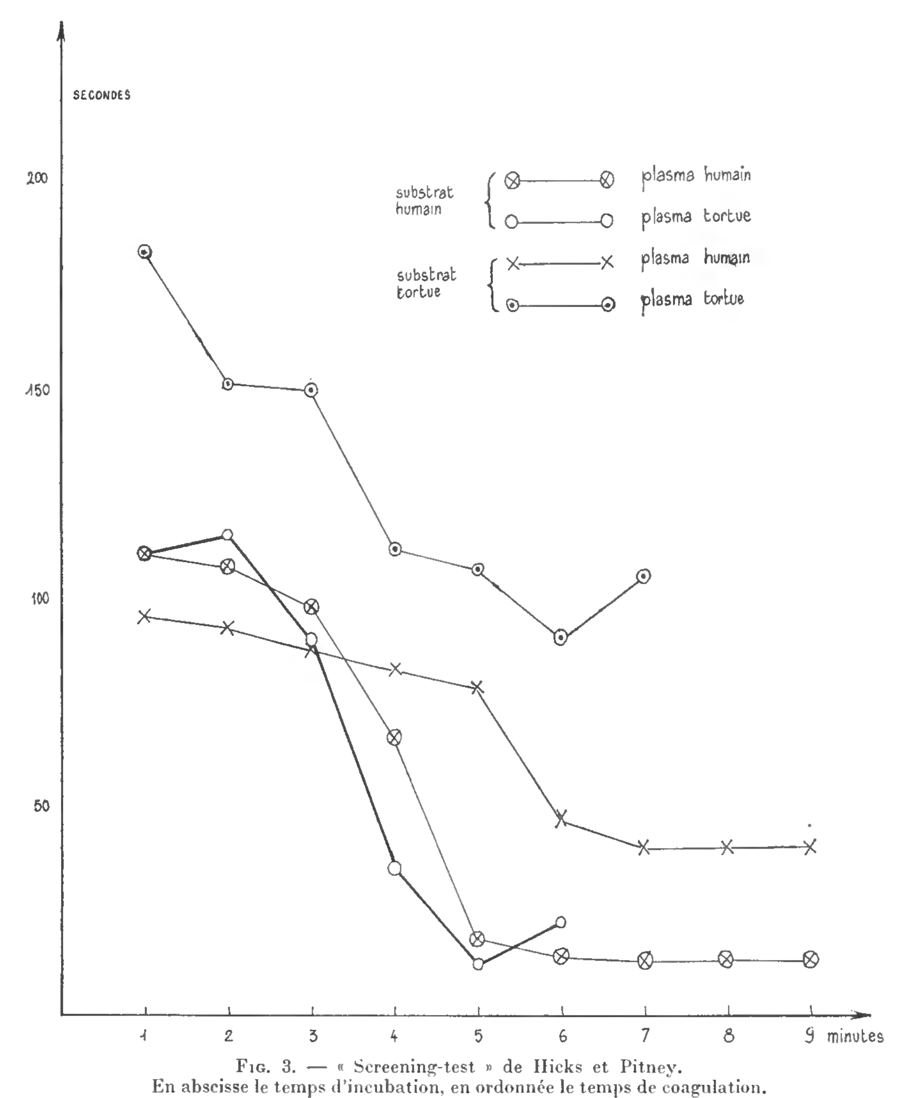


Fig. 3. — « Screening-test » de Hicks et Pitney.
En abscisse le temps d'incubation, en ordonnée le temps de coagulation.

Les facteurs anti-hémophiliques A et B ont été dosés selon la méthode en un temps de Soulier et Larrieu. Le taux de facteur VIII est de l'ordre de 25 à 40 % par rapport à l'Homme, celui du facteur IX est voisin de 100 % par rapport au taux humain normal. Le taux du facteur XII (facteur de Hageman) est très bas, inférieur à 5 %.

4. *Le taux de fibrinogène* mesuré par la méthode pondérale et / ou par thermocoagulation varie entre 2 g. et 4 g. 5 : il est donc voisin du taux humain normal.

Le *temps de thrombine* qui utilise de la thrombine active comme réactif est très nettement allongé : 170 et 125 secondes pour respectivement 20 et 7 secondes ehez l'Homme.

Le *temps de reptilase* est également très prolongé : 120 seeondes et davantage parfois, contre 20 seeondes chez l'Homme. La recherche de l'anti-thrombine III est négative, et ne permet pas de mettre eelle-ei en évidenee.

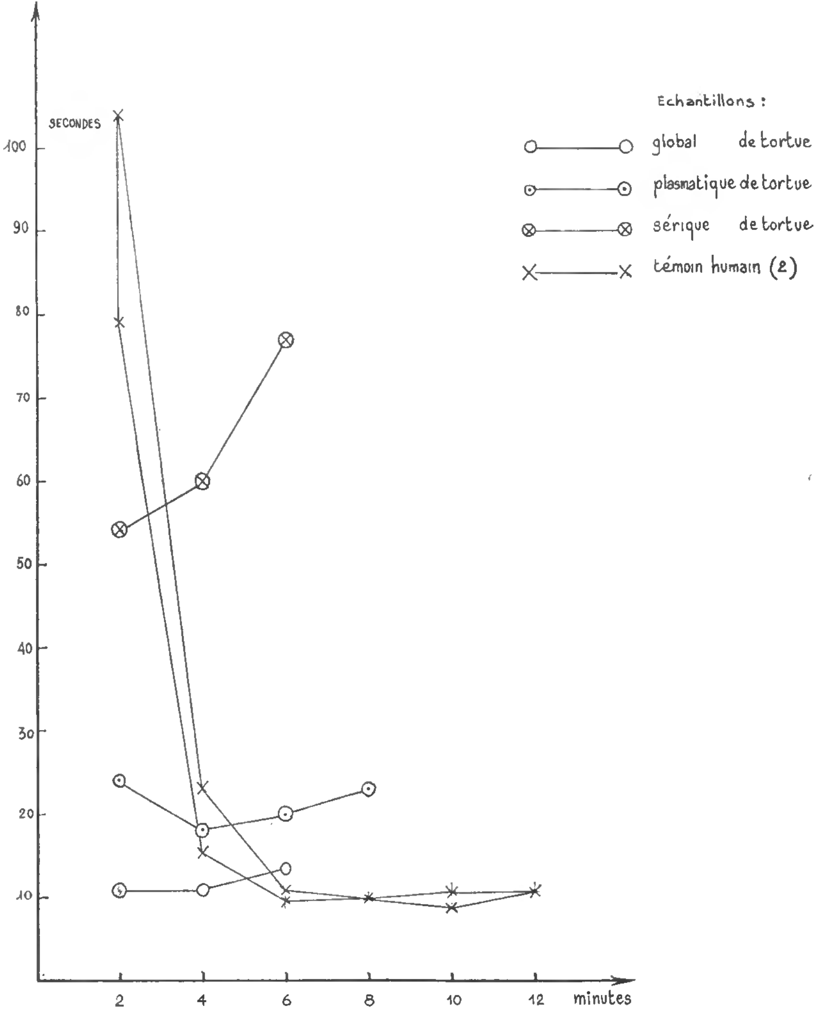


Fig. 4. — Test de génération de Thromboplastine de Biggs et Douglas. Comparaison entre *T. graeca* et l'Homme (2 échantillons).

5. *Etude de la fibrinolyse :* l'urokinase et la streptokinase ajoutées au plasma ou à la solution de globuline ne provoquent aueune fibrinolyse ; en outre, le mélange de plasma humain et de plasma de Tortue est insensible à l'aetion de l'urokinase alors que le plasma humain seul est particulièrement sensible à cette enzyme.

6. *Hématocrite :* les quelques examens auxquels nous avons procédés nous permettent d'avancer la valeur de 30 %.

B. —. COAGULATION CHEZ LA VIPÈRE.

Le taux de fibrinogène paraît chez elle inférieur à celui de la Tortue. Les autres examens donnent des résultats du même ordre que chez la Tortue. L'hématocrite serait plus bas.

C. COAGULATION CHEZ LA COULEUVRE.

Nous avons préparé une thromboplastine à partir du poumon de Couleuvre lavé au sérum physiologique, puis écrasé avec su sable. Le surnageant est utilisé comme thromboplastine. Avec ce réactif, on obtient un temps de Quick de l'ordre de 14 secondes pour la Couleuvre contre 137 secondes pour le plasma humain et des taux nettement plus courts pour la Couleuvre que pour le plasma humain pour les facteur II, V, VII et X (respectivement : 93 contre 169 ; 77 contre 208 et 54 contre 290). Un dosage du facteur VII avec un réactif artificiel obtenu à partir de plasma de Lapin, traîté par une anti-vitamine K, a donné des résultats équivalents : 42 secondes contre 270.

Le sang de la Vipère et de la Couleuvre est incoagulable en présence de venin de *Bothrops jararaca* (Crotaliné sud-américain) alors que ce venin active chez l'Homme les facteurs de la thrombinoformation et fait transformer directement le fibrinogène en fibrine. Ce fait n'a pas encore reçu d'explication.

Discussion et conclusion.

Le mécanisme de l'hémostase des Reptiles sur lequel a porté notre étude n'est pas fondamentalement différent de ce qui est connu chez les Mammifères.

Le substrat, c'est-à-dire le fibrinogène, existe à un taux voisin de celui de l'Homme. Le fibrinogène et ses caractéristiques, qui avaient été déjà étudiés par MOSESSON (1934) et collaborateurs, ne sont pas très différents de ceux de l'Homme.

Les difficultés inhérentes au dosage de ses facteurs chez les Reptiles sont liées au fait que l'on dose des activités enzymatiques et que les systèmes utilisés ont été mis au point pour l'Homme, de sorte que le problème de spécificité d'espèce n'a pu être éliminé ici. Les résultats très différents obtenus avec les diverses thromboplastines utilisées en témoignent. C'est donc avec prudence et beaucoup d'esprit critique que nous devons aborder l'interprétation des résultats publiés dans ce domaine (ALBRITON, 1955).

L'analyse sommaire du système fibrinolytique chez la Tortue conduit à des résultats par contre plus éloignés de ceux habituellement trouvés chez l'Homme. Il est singulier de constater que ni la streptokinase, ni l'urokinase ne sont capables d'induire de fibrinolyse. Le dernier de ces réactifs active, chez les Mammifères, l'enzyme fibrinolytique normal du plasma ; le premier, extrait du streptocoque active chez l'Homme, mais non chez le Bœuf, un précurseur de l'activateur plasmatique de cet enzyme.

Il nous est apparu que la thrombinoformation de la Tortue est plus lente

que celle de l'Homme alors que la thromboplastinoformation est d'une qualité équivalente à la thromboplastinoformation du sang humain. Il semble donc que l'articulation entre la thromboplastinoformation intrinsèque et la thrombinoformation soient différentes de celles de la coagulation du sang humain. Nous poursuivons l'exploration de ce phénomène.

Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique,
94, Villejuif, France.
Laboratoire d'Anatomie Comparée,
Muséum national d'Histoire naturelle,
55, rue Buffon, Paris, Ve, France.
Laboratoire de Coagulation, service d'Hématologie,
Hôtel-Dieu, Paris, France.

BIBLIOGRAPHIE

Albriron, E., 1955. — Standard values in blood. Saunders éd., pp. 1-198.

Finlay on, J. S. et Mosesson, M. W., 1964. — Chromatographic heterogeneity of animal fibrinogens. *Biochim.-Biophys. Acta*, **82**, pp. 415-417.

Ratnoff, O. D., 1966. — Biology and Pathology of the first stages of blood's coagulation. *Progress in Hematology*, pp. 224-226.

Warner, E. et coll., 1939. — Standard values un blood. *in* Albriton (E.), Saunsers éd., 1955.

Tableau 1. — Schéma simplifié de la coagulation : les facteurs explorés dans cette étude. En traits pleins, les transformations ; en traits interrompus, les activations ou actions enzymatiques ; FAHA, facteur anti-hémophilique A ; FAHB, facteur anti-hémophilique B ; FSF, facteur stabilisant la fibrine ; PTA, « plasma thromboplastin antécédent ».

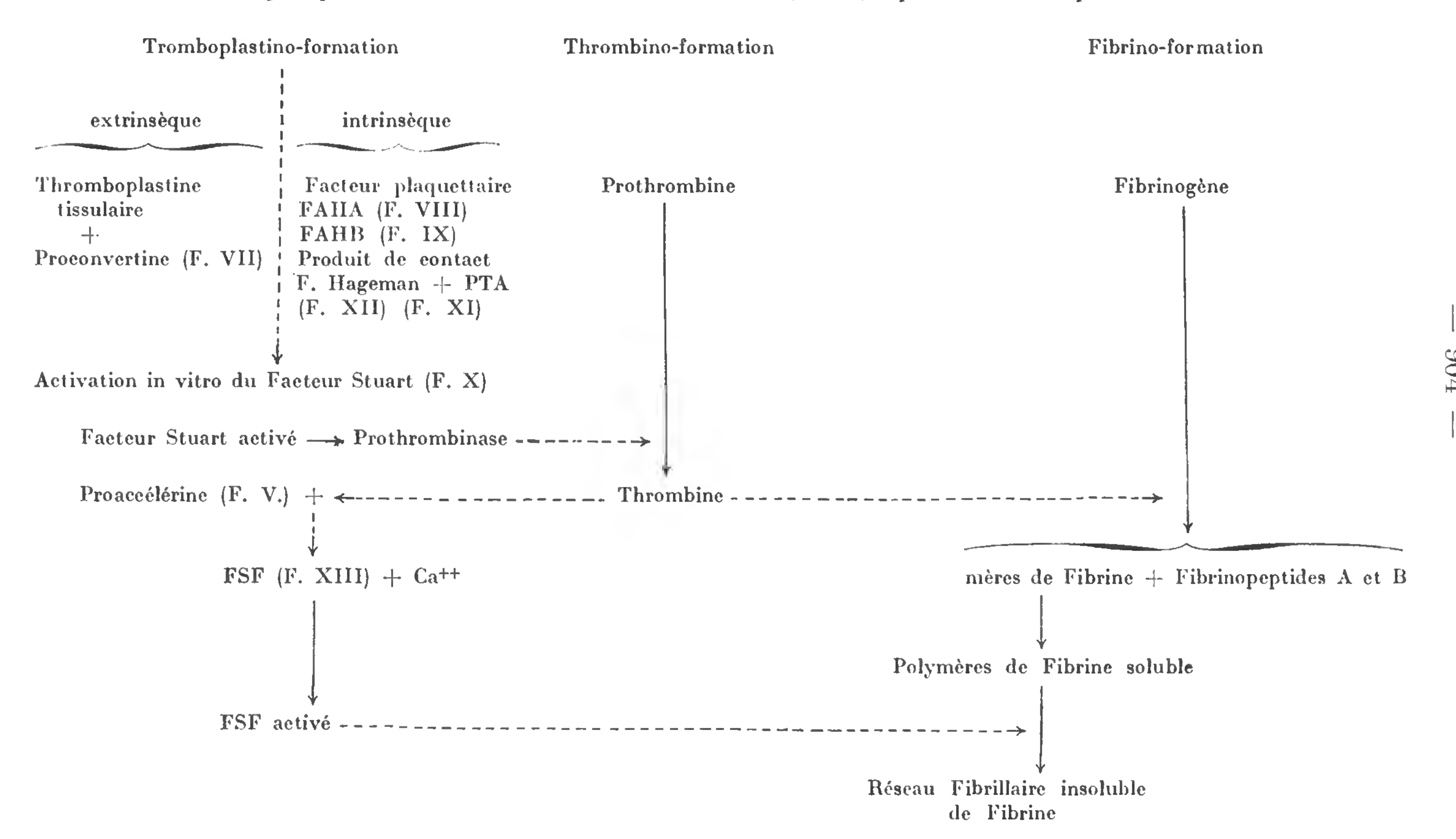


Tableau 2. — Schéma localisant dans le processus de la coagulation, les niveaux auxquels interviennent les différents tests utilisés, et la nature du matériel utilisé.

